

**STRUKTUR MIKROANATOMI TESTIS TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*) SETELAH
PERLAKUAN TEH KOMBUCHA KONSENTRASI 100% (V/V)
DENGAN WAKTU FERMENTASI YANG BERBEDA**

Vinsensius Dhani Mahadika*, Sri Isdadiyanto, Silvana Tana

Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang

*Email: vinsenhomer@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengkaji potensi teh kombucha kadar 100% (v/v) dengan variasi waktu fermentasi dalam mempengaruhi struktur mikroanatomi testis tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menggunakan tikus putih (*R. norvegicus*) jantan sebanyak 16 ekor umur 2 bulan dengan perlakuan teh kombucha yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C per oral. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan (selama 28 hari) dan 4 ulangan yaitu P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 12 hari. Variabel yang diukur adalah diameter tubulus seminiferus dan jumlah sel Leydig. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 16.0. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian teh kombucha menurunkan diameter tubulus seminiferus hingga berpotensi mengganggu proses spermatogenesis, tetapi tidak mempengaruhi jumlah sel Leydig tikus putih.

Kata kunci: *Rattus norvegicus*, teh kombucha, tubulus seminiferus, sel Leydig

PENDAHULUAN

Teh Kombucha adalah minuman menyegarkan dengan rasa sedikit manis dan sedikit asam yang dikonsumsi secara mendunia. Teh kombucha diperoleh dari hasil fermentasi simbiosis bakteri dan ragi membentuk “jamur teh” (Chen and Liu, 2000). Lapisan selulotik tipis terapung dan cairan seduhan asam merupakan 2 bagian dari teh kombucha (Dufrense and Farnworth, 2000). Teh kombucha dipersiapkan dengan menambahkan kultur Kombucha (jamur teh) ke dalam seduhan teh manis untuk fermentasi. Jika kultur kombucha dibudidayakan sesuai dengan resep standar menggunakan teh hitam, dipermanis dengan sukrosa, maka substansi ini akan berubah menjadi minuman teh jamur menyegarkan dengan nilai gizi tinggi dan kandungan berkhasiat medis (Loncar dkk., 2000).

Chen and Liu (2000) menyatakan bahwa kandungan ethanol pada kombucha meningkat seiring waktu dan mencapai nilai tertinggi pada sekitar 5,5 g/L, diikuti dengan penurunan yang lambat. Kusumah dan Ismail (2010) menunjukkan bahwa pemberian teh kombucha dengan dosis bertingkat dapat menyebabkan perubahan gambaran struktur histologis hepar mencit Balb/c berupa degenerasi parenkimatos, degenerasi hidropik, dan nekrosis sesuai dosisnya. Hasil penelitian Yuanita dan Ismail (2010) juga menunjukkan pemberian teh kombucha dosis bertingkat menyebabkan perubahan struktur histologis ginjal mencit Balb/c berupa penutupan lumen tubulus proksimal.

Studi menunjukkan alkohol merupakan zat yang bersifat toksik pada testis. Luka pada jaringan testis dapat berakibat pada menurunnya produksi sperma atau mengurangi sekresi testosteron dari testis dan gangguan transportasi sperma melalui sistem saluran atau pengiriman ke dalam saluran kelamin betina. Kualitas sperma yang tersedia untuk fertilisasi juga dapat terganggu (Creasy, 2001). Menurut El-Sokkary (2001) pemberian alkohol secara kronik mampu menyebabkan penurunan diameter tubulus seminiferus, jumlah sel spermatogenik, dan kemunculan sel-sel germinal yang mati serta mengalami vakuolasi berbagai ukuran. Alkohol juga mampu menyebabkan penurunan jumlah dan volume inti sel Leydig secara signifikan. Keragaman fungsional dari sistem reproduksi jantan dan kompleksitas regulasi hormonnya memberikan lokasi potensial untuk

gangguan kimiawi. Tujuan penelitian ini untuk mengkaji potensi teh kombucha kadar 100% dengan variasi waktu fermentasi dalam mempengaruhi struktur mikroanatomi testis tikus putih (*R. norvegicus*).

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Penelitian dilaksanakan pada bulan September-Desember 2016. Penelitian ini menggunakan Tikus putih galur wistar (*R. norvegicus*) jantan sebanyak 16 ekor umur 2 bulan, dengan perlakuan teh kombucha yang difermentasi selama 6, 9 dan 12 hari pada suhu 25°C *per oral*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan (selama 28 hari) dan 4 ulangan, yaitu : P0 = kontrol, tanpa tambahan teh kombucha, P1 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 6 hari, P2 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 9 hari, P3 = air minum + 1,8 ml teh kombucha pagi dan sore fermentasi 12 hari. Variabel yang diukur adalah diameter tubulus seminiferus, jumlah sel Leydig, dan bobot tubuh. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan Uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95% dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 16.0 (Mattjik dan Sumertajaya, 2006).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis tentang pengaruh pemberian teh kombucha dengan waktu fermentasi berbeda terhadap diameter tubulus seminiferus tikus dan jumlah sel Leydig pada taraf kepercayaan 95% dapat dilihat di Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Rata-Rata Diameter Tubulus Seminiferus dan Jumlah Sel Leydig Tikus.

No	Variabel	Perlakuan			
		P0	P1	P2	P3
1	Diameter Tubulus Seminiferus (μm)	273,766 ^b ±4,37	242,179 ^a ±15,61	230,013 ^a ±10,38	228,292 ^a ±6,54
2	Jumlah Sel Leydig (sel)	14,50 ^a ±2,65	14,25 ^a ±0,96	13,25 ^a ±2,36	11,75 ^a ±2,36

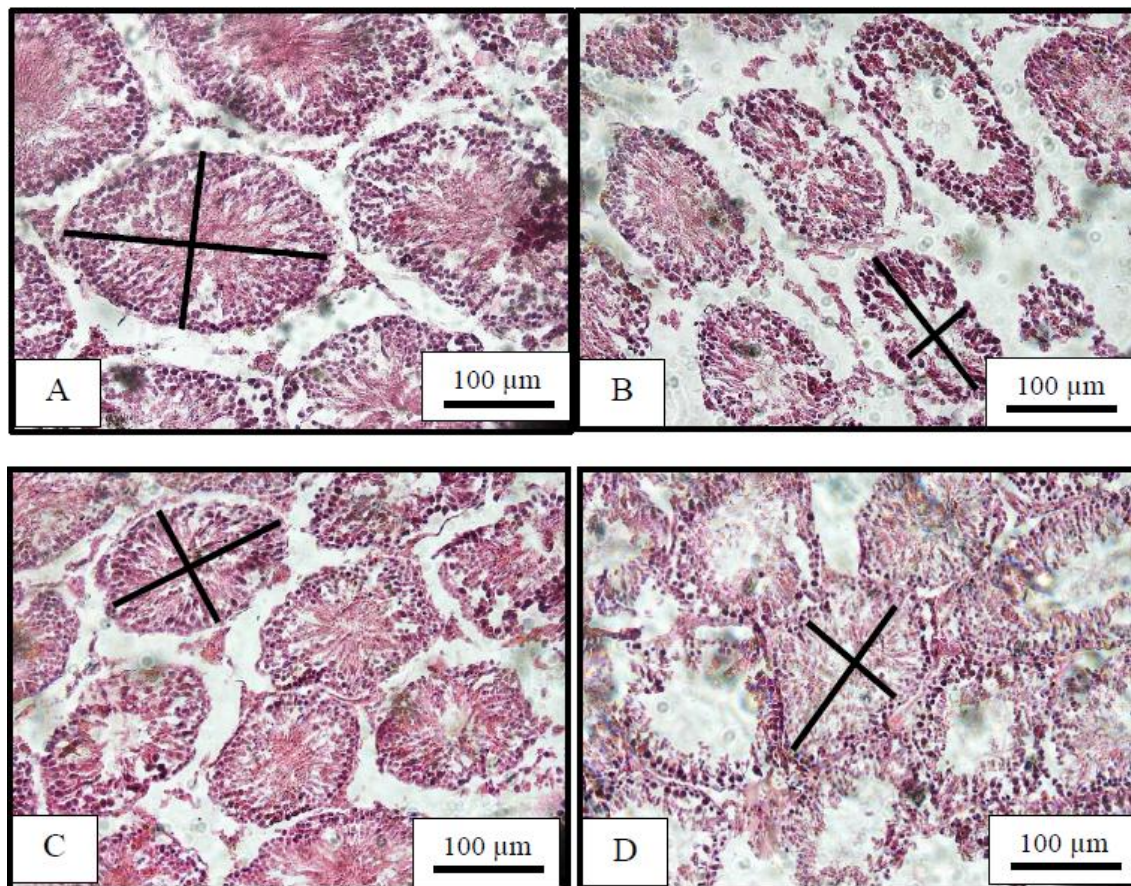
Keterangan: Angka yang ditunjukkan dengan superskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P>0,05$). P0: Perlakuan kontrol, P1: Pemberian teh kombucha fermentasi 6 hari, P2: Pemberian teh kombucha fermentasi 9 hari, P3: Pemberian teh kombucha fermentasi 12 hari.

Hasil analisis pengaruh pemberian teh kombucha berbeda hari fermentasi terhadap diameter tubulus seminiferus tikus dengan uji Duncan menunjukkan hasil berbeda nyata ($P<0,05$) antara P0 (kontrol) dan P1 (fermentasi 6 hari) berupa penurunan diameter tubulus seminiferus testis, demikian juga dengan P0 dan P2 (fermentasi 9 hari), serta P0 dan P3 (fermentasi 12 hari). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian teh kombucha berpengaruh pada diameter tubulus seminiferus tikus.

Menurut Lanning *dkk.* (2002), penurunan ukuran diameter tubulus seminiferus merupakan salah satu indikasi adanya kerusakan jaringan akibat dari penurunan jumlah sel germinal dan penurunan sekresi cairan tubular. Cairan tubulus seminiferus disekresikan oleh sel Sertoli dan berfungsi mempertahankan ukuran lumenal yang bervariasi dengan tahap spermatogenesis. Sekresinya adalah bagian dari fungsi androgen yang bergantung pada sel Sertoli dan akan terpengaruh oleh sekresi testosteron yang berubah. Perubahan ini juga terlihat pada pengamatan mikroskopis. Hasil fotomikrograf (Gambar 1) menunjukkan adanya perbedaan berupa struktur tubulus seminiferus P0 memiliki susunan sel spermatogenik yang rapat dan kompak, sedangkan tikus

dengan perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan struktur sel spermatogenik yang semakin renggang seiring pertambahan waktu fermentasi dengan lumen yang tidak terisi penuh oleh spermatozoa. Menurut Waty dkk. (2017), struktur mikroanatomi tubulus seminiferus yang normal akan menunjukkan asosiasi sel spermatogenik tersusun sesuai dengan tingkat perkembangannya dari membran basalis menuju ke arah lumen tubulus, yakni spermatogonia, spermatosit, dan spermatid.

Hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus dan pengamatan mikroskopis menunjukan teh kombucha mempengaruhi struktur mikroanatomi testis tikus. Perubahan struktur mikroanatomi menunjukkan adanya zat berpotensi toksik yang terkandung dalam teh kombucha, dan salah satu yang sudah diketahui adalah alkohol atau ethanol. Chen and Liu (2000) menyatakan kandungan etanol pada teh kombucha mencapai nilai tertinggi pada sekitar 0,55% pada hari ke-20 diikuti dengan penurunan yang lambat, sedangkan menurut Pratiwi dan Aryawati (2012) mencapai 0,4683% pada hari ke 12.



Gambar 1. Tubulus seminiferus *R. norvegicus* pada perlakuan kontrol (A), pemberian teh kombucha fermentasi 6 hari (B), fermentasi 9 hari (C), dan fermentasi 12 hari (D). Garis menunjukkan pengukuran diameter. Pewarnaan Hematoksilin-Eosin perbesaran 100×.

El-Sokarry (2011) menyatakan bahwa ukuran tubulus seminiferus bisa berkurang pada tikus yang mengkonsumsi alkohol. Rachdaoui and Sarkar (2013) menyatakan bahwa tingkat hormon testosteron menurun pada tikus dengan paparan alkohol yang diasosiasikan dengan penurunan FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan LH (Luteinizing Hormone). Rachdaoui and Sarkar (2013) juga menyatakan bahwa asetaldehid, metabolit dari alkohol dapat menghambat produksi testosteron dengan inhibisi protein Kinase C yang merupakan enzim kunci pada sintesis testosteron. Produksi sel germinal dan proses spermatogenesis pada testis sangat berkaitan dengan aktivitas hormonal. Holstein dkk. (2003) menyatakan bahwa regulasi spermatogenesis membutuhkan rangsangan

ekstratestikular dari hipotalamus dan hipofisis. Sekresi Gonadotropin-releasing Hormone (GnRH) dari hipotalamus menginisiasi pelepasan Luteinizing Hormone (LH) dari hipofisis dan sebagai hasilnya menstimulasi sel Leydig untuk memproduksi testosteron. Testosteron tidak hanya mempengaruhi spermatogenesis pada tubulus seminiferus testis tetapi juga didistribusikan ke seluruh tubuh dan memberikan umpan balik terhadap hipofisis yang terkait dengan aktivitas sekretori sel Leydig.

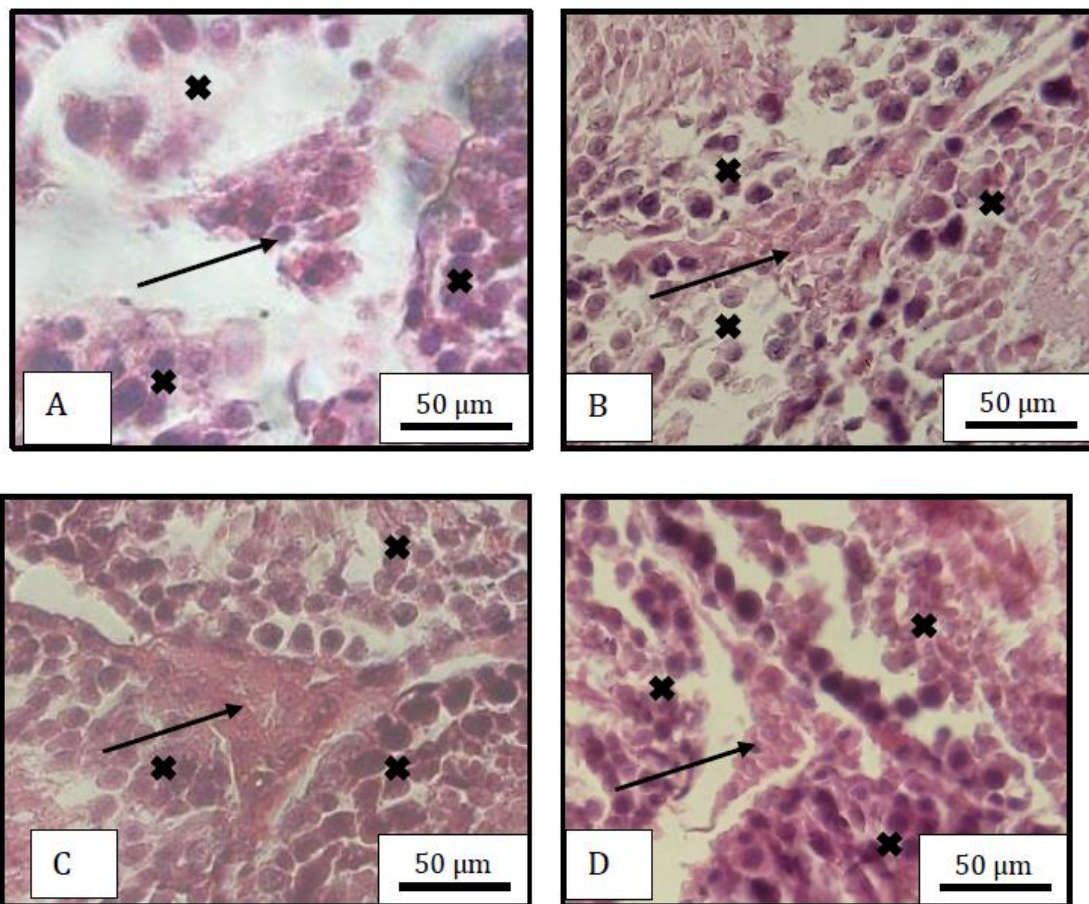
Menurut Rees (2005), gangguan sintesis dan sekresi GnRH hipotalamus yang disebabkan oleh alkohol akan menyebabkan kegagalan hipofisis untuk melakukan sintesis dan sekresi FSH maupun LH. Gangguan hormon selanjutnya akan diikuti oleh kegagalan sel Leydig untuk mensintesis testosteron dan sel Sertoli tidak mampu melakukan fungsinya sebagai *nurse cell*. Alkohol menimbulkan gangguan pada hipotalamus dan hipofisis, selain itu juga bertindak sebagai inhibitor bagi enzim 5 α -reduktase. Enzim ini digunakan untuk mengubah prohormon (testosteron) menjadi bentuk aktifnya yaitu 5 α -dihidrotestosteron. Testosteron dalam bentuk aktif yang tidak dihasilkan akhirnya menyebabkan proses spermatogenesis tidak terjadi dan menyebabkan penurunan jumlah lapisan sel spermatogenik (Nugroho, 2009). Menurut Lanning dkk. (2002) penurunan diameter tubulus seminiferus merupakan indikasi penurunan jumlah lapisan sel spermatogenik atau sel germinal.

Perubahan struktur tubulus seminiferus menghasilkan dugaan awal bahwa pemberian teh kombucha yang mengandung ethanol bisa memberikan pengaruh buruk pada tingkat fertilitas kelamin jantan, akan tetapi menurut Creasy (2001) apabila ada zat bersifat toksik yang merusak sel germinal, kematian sel yang benar-benar mempengaruhi kesuburan bergantung pada populasi sel germinal yang terkena dampak toksiknya. Apabila spermatogonia pada tikus mati, kesuburan tidak akan terpengaruh hingga 8-10 minggu semenjak paparan zat toksin. Oleh karena itu, masih ada kemungkinan bahwa sel germinal pada tubulus seminiferus tikus yang diberi teh kombucha untuk kembali pulih. Kemungkinan pemulihan sel germinal ini menunjukkan perlu adanya penelitian kualitas dan kuantitas sperma dari tikus yang diberi teh kombucha.

Rata-rata jumlah sel leydig tidak menunjukkan beda nyata pada perlakuan P0, P1, P2, dan P3, demikian juga dengan kenampakan mikroanatomiya (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa teh kombucha dengan fermentasi 6, 9, dan 12 hari konsentrasi 100% tidak menyebabkan perubahan pada struktur sel Leydig. Fungsi sel leydig menurut Dong and Hardy (2004) adalah sumber utama dari hormon androgenik testosteron, yang penting untuk diferensiasi seksual pria, produksi gamet dan pematangan, dan pengembangan karakteristik seksual sekunder. Menurut Creasy (2001) fungsi utama sel Leydig adalah steroidogenesis, sehingga zat apa pun yang mengganggu jalur metabolismenya akan menghasilkan gangguan fungsional dalam keseimbangan hormon. El-Sokarry (2011) menyatakan bahwa sel leydig rentan terhadap beberapa toksikan melalui efek langsung atau gangguan sumbu hipotalamus-hipofisis.

Menurut Dong and Hardy (2004), toksisitas dapat merusak sel Leydig dengan tiga cara: stimulasi berlebih atau penghambatan steroidogenesis, induksi pembentukan tumor, dan promosi kematian sel. Teh kombucha mengandung alkohol (Chen and Liu, 2000; Pratiwi dan Aryawati, 2012) dan alkohol dapat menurunkan jumlah sel Leydig (El-Sokarry, 2011) serta menurunkan tingkat testosteron (Dong and Hardy, 2004). Peluang toksisitas alkohol pada teh kombucha berdasarkan hasil pengamatan tidak terlihat secara kuantitatif pada jumlah sel Leydig.

Sel Leydig berkaitan dengan spermatogenesis karena menurut Holstein dkk. (2003) sel Leydig mensekresikan testosteron dan zat neuroendokrin tambahan dan faktor tumbuh yang terlibat dalam pemeliharaan sel Sertoli dan sel jaringan peritubular; mempengaruhi kontraktilitas myofibroblasts dan mengatur pergerakan peristaltik tubulus seminiferus dan pengangkutan spermatozoa. Hasil pengukuran diameter tubulus seminiferus (Tabel 1) menunjukkan adanya penurunan diameter tubulus seminiferus pada tikus yang diberi teh kombucha. Penurunan diameter menunjukkan adanya penurunan jumlah sel germinal (Lanning dkk., 2002) yang dapat diasumsikan adanya gangguan pada siklus spermatogenik yang diregulasi oleh hormon androgenik dari sel Leydig.



Gambar 2. Sel Leydig (ditunjukkan oleh panah) di antara tubulus seminiferus (ditunjukkan oleh tanda silang) pada perlakuan kontrol (A), pemberian teh kombucha fermentasi 6 hari (B), fermentasi 9 hari (C), dan fermentasi 12 hari (D) Perbesaran 400x dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin.]

Pada penelitian ini belum dapat dipastikan apakah teh kombucha yang tidak memberikan perubahan signifikan pada jumlah sel Leydig menunjukkan adanya penurunan hormon androgenik juga berpengaruh pada fertilitas. Untuk mengetahui pengaruh teh kombucha pada kesuburan secara langsung diperlukan penelitian lanjutan seperti jumlah spermatozoa dan kondisi hormonal hewan uji.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian teh kombucha fermentasi 6, 9, dan 12 hari mempengaruhi struktur mikroanatomi testis *R. norvegicus* yang ditandai dengan penurunan diameter tubulus seminiferus. Hal ini dapat disimpulkan bahwa teh kombucha berpotensi mengganggu proses spermatogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen & Liu. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal Applied Microbiology* 89(5):834-839.
- Creasy, D.M. (2001). Pathogenesis of Male Reproductive Toxicity. *Toxicologic Pathology*, 29(1), 64 – 76
- Dong, Q. & Hardy, M.P. (2004). Leydig Cell Function in Man. In Winters, S & Huthaniemi, I.T (Ed.). *Male Hypogonadism: Basic, Clinical, and Therapeutic Principle*. New Jersey: Humana Press Inc.
- Dufrense & Farnworth. (2000). Tea, kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33(6), 409–21

- El-Sokarry, G.H. (2001). Quantitative Study on The Effects of chronic Ethanol Administration on Testis of Adult Male Rat. *Neuroendocrinology Letters*, 22(2), 93-99
- Holstein, A.F. Schulze, W. and Davidoff, M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Journal of Reproductive Biology and Hughes*, I.A. and C.L. Acerini. 2008. Factors controlling testis descent. *European Journal of Endocrinology*, 159, 575–582.
- Kusumah L.P, Ismail A. (2010). *Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Per Oral Dengan Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histologis Hepar Mencit Balb/C*. 02 Desember 2010. Universitas Diponegoro Semarang, Fakultas Kedokteran. <http://eprints.undip.ac.id/24315/>
- Lanning, L.L, Creasy, D.M., Chappin, R.M., Mann, P.C., Barlow, N.J., Regan, K.S., and Goodman, D.G. (2002). Recommended Approaches for the Evaluation of Testicular and Epididymal Toxicity. *Toxicologic Pathology*, 30(4), 507-520
- Loncar E.S., Petrovic S.E., Malbasa R.V., and Verac, R.M. (2000). Biosynthesis of glucuronic acid by means of tea fungus. *Nahrung*, 44(2),138–9.
- Mattjik, A.A. dan Sumertajaya, I.M. (2006). Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Ed. Ke-3. IPB-Press, Bogor.
- Nugroho, C.A. (2009). Pengaruh Minuman Beralkohol Terhadap Jumlah Lapisan Sel Spermatogenik dan Berat Vesikula Seminalis Mencit. *Widya Warta*, 33(1), 41-52
- Pratiwi, A.E. & Aryawati, R. (2012). Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap sifat fisik dan kimia pada pembuatan minuman kombucha dari Rumput Laut *Sargassum sp.* *Maspari Journal*, 4(1), 131-136.
- Rachdaoui, N. & Sarkar, D.K. (2013). Effects of Alcohol on the Endocrine System. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*, 42(3), 593–615
- Rees, T.J. (2005). *The Toxicology of Male Reproduction: Literature Review in Applied Toxicology*. Portsmouth: Portsmouth University
- Waty, M., Tana, S., & Saraswati, T. (2017). Histologis Testis pada Keturunan F1 dari Induk Puyuh (*Coturnix coturnix japonica* L.) yang diberi Suplemen Serbuk Kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam Pakan. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 19(1), 13-17. doi:<http://dx.doi.org/10.14710/bioma.19.1.13-17>
- Yuanita, D.A & Ismail, A. (2010). *Pengaruh Pemberian Teh Kombucha Dosis Bertingkat Per Oral Terhadap Gambaran Histologi Ginjal Mencit Balb/C*. 02 Desember 2010, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro Semarang. <http://eprints.undip.ac.id/24332/>